Ueber

Emulsin und Legumin.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung

der

Doctorwürde in den Naturwissenschaften

unter dem Præsidium

von

Dr. **F. Hoppe-Seyler,**

o. ö. Professor der angewandten Chemie an der Universität Tübingen

vorgelegt von

August Schmidt

aus Kirchentellinsfurth.

Tübingen, 1871.

Druck von Heinrich Laupp.

I. Emulsin.

Obwohl die merkwürdigen Erscheinungen der Fermentwirkungen schon früh die Aufmerksamkeit der bedeutendsten Chemiker auf sich gelenkt und manche der Letztern sich eingehend mit dem Studium derselben befasst haben, sind dieselben doch bis jetzt nach bestimmten Richtungen hin wenig bekannt. Mit Vorliebe und nicht ohne Glück hat man die chemischen Eigenschaften und besonders die Zersetzungen derjenigen Körper verfolgt, welche bei den Fermentwirkungen auffallende Veränderungen erfahren, dagegen sind unsere Kenntnisse in Betreff der Fermente selbst, auch wenn man von denen absieht, welche man von lebenden Organismen z. B. der Hefe, noch nicht zu trennen gelernt hat, ausserordentlich gering. Von den meisten dieser Fermente ist eine Reindarstellung noch kaum versucht, von keinem derselben als sicher gelungen anzusehen. Allerdings stellen sich der Darstellung und der Untersuchung der Eigenschaften der Fermente erhebliche Schwierigkeiten entgegen, insbesondere ihre grosse Veränderlichkeit, aber ohne sie zu überwinden wird es nicht möglich sein, Einsicht in die ersten Phasen der Fermentationsprocesse zu gewinnen.

Die Fermente welche sich in den Pflanzen finden und deren Einwirkungen besonders ausführlich untersucht sind, Emulsin, Myrosin, Diastase, hat man meist den Eiweisskörpern zugezählt. Es sind neuerdings bessere Methoden zur

Trennung und Isolirung der Eiweisskörper aufgefunden, welche jedoch zur Untersuchung der pflanzlichen Eiweissstoffe noch kaum Verwendung gefunden haben, keiner der bisher isolirten Albuminstoffe zeigt eine Fermentwirkung, dagegen ist es von den jetzt besser bekannten thierischen Fermenten des Speichels, des Magensaftes und des pancreatischen Saftes, nach den Untersuchungen von E. Brücke [1]), Danilewski [2]), Krasilikow [3]), Cohnheim [4]), wohl unzweifelhaft, dass sie nicht den Eiweisskörpern zugehören, sondern in ihrem Verhalten wenigstens dem Mucin näher stehen.

Bei der grossen Aehnlichkeit der thierischen und pflanzlichen Fermentationen ist anzunehmen, dass auch die Fermente derselben ähnliche Eigenschaften, vielleicht auch ziemliche Uebereinstimmung in der Zusammensetzung besitzen.

Am Sorgfältigsten unter den Fermentationswirkungen sind die der Diastase, des Pepsins und des Emulsins untersucht. Wegen der Wichtigkeit der Spaltungs-Producte des Amygdalins, hat auch das Emulsin frühe bevorzugte Beachtung gefunden. Meine Versuche, dasselbe nach den bisher angegebenen Methoden darzustellen, sowie die Prüfung seiner Einwirkung auf Amygdalinlösung, ergaben Manches von den frühern Angaben Abweichendes.

Für die im Folgenden zu schildernden Untersuchungen stellte ich mir die Aufgabe:

1. Ein möglichst reines Emulsin zu gewinnen.
2. Zu prüfen, ob dasselbe den Eiweissstoffen zugehöre.
3. Unter welchen Bedingungen und Einschränkungen seine Einwirkung auf Amygdalinlösung stattfindet.

---

1) Sitzungsberichte der Wiener Academie Bd. 43. S. 602.
2) Virchow's Archiv f. pathol. Anat. Bd. 25. S. 279.
3) Medicinsky Wjestnik 1864.
4) Virchow's Archiv f. path. Anat. Bd. 28. S. 241.

4. Ob das Emulsin bei diesen Einwirkungen unverändert bleibt.
5. Ob es auch auf andere Stoffe einen der Wirkung auf Amygdalin ähnlichen oder davon nachweisbar verschiedenen Einfluss ausübt.

1. Darstellung des Emulsins.

Methoden zur Darstellung des Emulsins sind angegeben von Robiquet [1]), Bull [2]), und von Thomson und Richardson [3]). Robiquet suchte es zu isoliren durch Maceration von süssen Mandeln mit Wasser, in dem wässrigen Auszug werden Eiweisskörper und phosphorsaure Salze durch Fällen mit Bleiessig entfernt, im Filtrat das überschüssige Blei durch Schwefelwasserstoff niedergeschlagen und nun die Emulsinlösung unter der Luftpumpe rasch von Schwefelwasserstoff befreit und zur Trockne gebracht. Schwefelwasserstoff wirkt schon in geringen Mengen zerstörend auf die fermentativen Eigenschaften des Emulsins, ebenso wirkt eine nicht allzuverdünnte Essigsäure, welche bei diesem Verfahren frei wird, nachtheilig, wenigstens ist mir die Darstellung eines Amygdalinlösung zersetzenden Emulsins nach dieser Methode nicht gelungen, und ich kann diesen Misserfolg nur den Mängeln der Methode zuschreiben.

Die Darstellungs-Methoden von Bull, sowie von Thomson und Richardson zeigen ziemliche Uebereinstimmung. Zerstossene süsse Mandeln werden mit Wasser angerührt, mit der vierfachen Menge Aether bedeckt und nach dreiwöchentlicher Maceration die untere Lösung abgehebert, filtrirt, in

1) Journal de Pharmac. XXIV. p. 326.
2) Annal. der Chem. u. Pharmac. Bd. 69. S. 145.
3) Annal. der Chem. u. Pharmac. Bd. 29. S. 180.

zwei Theile getheilt, in einer Hälfte das Emulsin durch Kochen coagulirt, in der andern Hälfte durch Fällen mit Alhohol abgeschieden. Emulsin coagulirt nicht beim Kochen, das Coagulum kann also der Hauptmenge nach bloss aus Eiweisskörpern bestanden haben. Durch Alkohol wird allerdings das Emulsin aus seiner wässrigen Lösung gefällt, allein in dem Wasserauszug von Mandeln sind ausser Emulsin noch Eiweissstoffe und phosphorsaure Salze in Lösung, die sämmtlich durch Alkohol mit gefällt werden, so dass auf diese Weise ein höchst unreines Product erhalten wird, wie auch Bull in seinen Analysen 22.0 % und 35.8 % Aschenbestandtheile angibt, hauptsächlich bestehend aus phosphorsaurer Kalk- und Talk-Erde.

Es geht hieraus hervor, dass trotz dieser Angaben die in den Lehrbüchern allgemeine Aufnahme gefunden haben, eine Darstellungsmethode des Emulsins eigentlich noch gar nicht existirt, dass desshalb auch die Reactionen und Analysen der Körper, welche nach Robiquet's und der andern bezeichneten Autoren Verfahren erhalten sind, keinen Werth haben, da sie das Ferment kaum betreffen.

Ich gieng bei meinen Untersuchungen zunächst davon aus, unter steter Prüfung des Verhaltens gegen Amygdalinlösung, eine Abscheidung von Eiweissstoffen in der Weise auszuführen, dass das Ferment doch in Lösung erhalten blieb und diess ist nun auch wie es scheint vollkommen gelungen.

Sämmtliche jetzt bekannte Eiweisskörper in ihrer Lösung geben mit alleiniger Ausnahme der Peptone, mit Ferrocyankalium und Essigsäure einen weissen Niederschlag, eine Emulsinlösung trübt sich mit diesen Reagentien nicht. Es eignet sich desshalb diese Reaction zur Constatirung der Abwesenheit von Eiweissstoffen in Emulsinlösungen und wurde diese Probe bei der Darstellung des Emulsins angenommen.

Bei den später mit Emulsin anzustellenden Versuchen

waren grössere Mengen Amygdalin erforderlich, aus diesem Grunde wurde die Darstellung beider Körper verbunden.

Zunächst wurden bittere Mandeln durch Pressen und nachherige Extraction mit Aether von fettem Oel befreit, hierauf der grösste Theil des Amygdalingehalts mit gewöhnlichem Alkohol ausgezogen und das Filtrat zur Krystallisation gebracht. Ein geringer Gehalt von Amygdalin im Rückstand bringt für die Darstellung von Emulsin keinen Nachtheil, da sich dieses bei der Zerlegung von Amygdalin nur in äusserst geringer Menge verändert. Die so vorbereiteten Mandeln wurden nun mit der 3- bis 4-fachen Menge Wasser zu einem dünnflüssigen Brei angerührt, nach drei Stunden ausgepresst und filtrirt. Hier, sowie bei den später beschriebenen Lösungen von Eiweisskörpern wurden die Filtrationen derart ausgeführt, dass die zuerst trübe durchs Filter gehende Flüssigkeit solange zurückgegossen wurde, bis ein klares Filtrat resultirte. Dieses Filtrat wurde mit Alkohol solange versetzt, als noch ein Niederschlag entstand, nach dem Absitzenlassen filtrirt und mit Alkohol ausgewaschen, der Niederschlag in möglichst wenig Wasser gelöst und durch vorsichtiges Zusetzen von Essigsäure und nachheriges Durchleiten eines Kohlensäurestroms die Eiweisskörper gefällt. Wenn die abfiltrirte Lösung mit Ferrocyankalium und Essigsäure noch einen Niederschlag gibt, so wird eine nochmalige Fällung mit Alkohol vorgenommen (wodurch der Rest von noch vorhandenen Eiweisskörpern, namentlich bei längerem Stehen unter Alkohol, in Wasser unlöslich gemacht wird, der Niederschlag mit Alkohol gewaschen, wieder in Wasser gelöst und klar filtrirt. Nöthigenfalls ist diese Operation noch einmal zu wiederholen, bis mit Ferrocyankalium und Essigsäure keine Trübung mehr erfolgt. Aus dem Filtrat lässt sich das Emulsin gewinnen, entweder durch Verdunsten im Vacuum, wobei es als gelblich durchscheinende spröde Masse zurückbleibt, oder

durch Fällen mit absolutem Alkohol und Waschen mit Aether. Hierbei wird es in Form eines weissen Pulvers erhalten, das aber ziemlich hygroscopisch ist und sich dann bräunlich färbt.

2. Eigenschaften und Zusammensetzung des Emulsins.

In der Zusammensetzung findet zwischen dem durch Verdunstung und dem durch Fällung erhaltenen Emulsin kein Unterschied statt, auch lösen sich beide gleich leicht in Wasser auf. Nach diesem Verfahren dargestelltes und trocken aufbewahrtes Emulsin verändert seine Eigenschaften, wie ich mich überzeugt habe in Jahresfrist nicht, seine Lösung in Wasser zeigt neutrale Reaction, dreht die Polarisationsebene nach links und diffundirt durch Pergamentpapier ziemlich leicht. Ebenso hat von Wittich die leichte Diffundirbarkeit der Diastase nachgewiesen, während z. B. das Pepsin gerade dadurch von den Peptonen getrennt werden kann, dass es nicht durch vegetabilisches Pergament in wässrigen Lösungen hindurchdringt. Es ergibt sich aus dieser verschiedenen Leichtigkeit, mit welcher die Diffusion der bekanntern Fermentkörper gelingt, dass sie auch in ihrem Verhalten gegen Wasser wesentlich von einander abweichen und diess ist wohl nicht unwichtig, weil bei einer Gährung in allen Fällen zunächst Einwirkung, meistens nachweisbare Aufnahme von Wasser in chemische Verbindungen stattfindet.

Mit den anorganischen Salzen der schweren Metalle, Quecksilberchlorid, Eisenchlorid, Eisenvitriol, Zink- und Kupfervitriol, salpetersaurem Silber, gibt Emulsinlösung Niederschläge, welche auf Amygdalinlösung nicht zersetzend wirken und aus denen mir bis jetzt nicht gelungen ist, Emulsin wieder zu isoliren. Die Verbindungen der schweren Metalle mit orga-

nischen Säuren trüben Emulsinlösung nicht und beeinträchtigen seine Fermentationswirkung nicht. Versuche in dieser Hinsicht sind gemacht mit Ferrocyankalium, Quecksilbercyanid, essigsaurem Silber und Bleiessig.

Das auf die obenbeschriebene Weise von mir dargestellte Emulsin gibt wie bereits erwähnt bei der Analyse ganz andere procentische Werthe als die von Bull, sowie von Thomson und Richardson dargestellten und analysirten Substanzen. Eine eingehendere Erörterung dieser Differenzen ist bei einem amorphen Körper, für dessen absolute Reinheit ausserdem keine genau zuverlässigen Garantien geboten sind, kaum thunlich, indessen ist bei der Darstellung nach dem angegebenen Verfahren und Anwendung der Ferrocyankaliumprobe mit Sicherheit constatirt, dass eine Verunreinigung mit den bekannten gewöhnlichen Eiweissstoffen nicht möglich ist.

Nach meinen Analysen ergaben:

I. 0.2275 grm. Substanz gaben 0.4060 CO_2
0.1455 H_2O
II. 0.1580 » » » 0.2830 CO_2
0.1010 H_2O
III. 0.2570 » » » 0.2565 Pt
IV. 0.2385 » » » 0.2393 Pt
V. 0.3190 » » « 0.0290 $BaSO_4$

hiernach berechnet sich:

	I.	II.	Mittel
C	48.67	48.85	48.76
H	7.16	7.10	7.13
N	14.12	14.20	14.16
S	—	1.25	1.25
O	—	—	28.70

während die Analysen von Bull

	I.	II.	III.
C	43.59	43.74	42.75
H	6.69	7,33	7.37
N	11.64	11.40	11.52
S	—	—	1.25

und die von Thomson und Richardson

	I.	II.
C	48.78	48.40
H	7.79	7.68
N	18.81	18.74

ergaben. Ueber einen Schwefelgehalt ist von letztern Autoren Nichts angegeben. Der Schwefel des Emulsins lässt sich merkwürdigerweise wie bei den meisten Eiweissstoffen, schon durch Kochen mit Alkalilösung theilweise aus der Verbindung abtrennen.

3. Die Fermentwirkuug des Emulsins.

In völlig trockenem Zustand lässt sich das Emulsin im Luftbad bis 120° erhitzen, ohne dass es eine Aenderung seiner Eigenschaften erleidet. Löst man es nach dieser Behandlung in kaltem Wasser und bringt die Lösung mit verdünnter Amygdalinlösung zusammen, so beginnt sofort die Zersetzung des letztern. Die Einwirkung des Emulsin auf Amygdalin in wässriger Lösung ist hinsichtlich ihrer Geschwindigkeit abhängig von der Temperatur, sie erfolgt langsam bei Temperaturen in der Nähe von 0°, steigert sich bei Erhöhung der Temperatur, erreicht ihr Maximum zwischen 35 und 40°, nimmt bei weiterer Erhöhung der Temperatur allmählig ab und mit einer auf 70—75° erhitzten Emulsinlösung zersetzt sich Amygdalin nicht mehr. Die Fähigkeit Amygdalin zu spalten verliert das Emulsin auch durch Mineralsäuren, Al-

kalien und kohlensaure Alkalien und zwar schon bei grosser Verdünnung. Sehr verdünnte Essigsäure, ebenso Weinsäure heben die fermentativen Eigenschaften nicht auf, ebensowenig der saure Magensaft von Thieren. Schwefelwasserstoff wirkt schon in geringen Mengen in dieser Beziehung auf Emulsin, weniger intensiv Carbolsäure.

Bei der Einwirkung von Emulsin auf Amygdalin wird bekanntlich letzteres zersetzt und zwar verhältnissmässig grosse Mengen davon durch geringe Quantitäten Emulsin, ohne dass dieses nachweisbare Veränderungen erleidet. 0.05 Gramm Emulsin mit 0.5 Gramm Amygdalin in wässriger Lösung zusammengebracht, liessen sich nach beendigter Zerlegung des Amygdalins durch Alkohol fällen und wurden nach dem Auswaschen mit Alkohol wieder in Wasser gelöst mit ebenderselben Menge Amygdalin zusammengebracht. Auf diese Weise wurden durch Wiederholung des Verfahrens 6mal 0.5 Gramm Amygdalin nach und nach durch die eine Menge Emulsin zerlegt, ohne dass eine Abnahme in der Intensität der Einwirkung zu bemerken war, ebenso wurde jedesmal das alkoholische Filtrat von dem Emulsinniederschlag auf etwa unzerlegtes Amygdalin geprüft, jedoch mit negativem Erfolg.

Emulsin löst sich in Glycerin, ebenso Amygdalin. Man kann nun die Lösungen beider Substanzen zusammenbringen, mischen, dann tagelang stehen lassen, ohne dass eine Einwirkung eintritt. Ebenso verhält sich eine Lösung beider Körper, die man direct durch Zusammenreiben von bittern Mandeln mit Glycerin und nachherige Filtration darstellt. Wird aber diese Mischung auf 65—70° erwärmt, so tritt ein intensiver Bittermandelölgeruch auf. Interessant ist, dass die Einwirkung bei derselben Temperatur erfolgt, bei welcher das Emulsin in wässriger Lösung die Fähigkeit verliert, Amygdalin zu zersetzen. Dass diess Verhalten der Glycerinlösung nicht auf einer durch Zähigkeit des Fluidums gehinderten

Molekularwirkung beruht, wurde durch Anwendung von ganz concentrirter Zuckerlösung statt Glycerin, nachgewiesen. Reibt man bittere Mandeln mit concentrirter Zuckerlösung zusammen, oder werden Emulsin und Amygdalin für sich darin gelöst und die Lösungen gemischt, so entwickelt sich sofort der Geruch nach Bittermandelöl.

Es kann sonach nicht zweifelhaft sein, dass nur der Mangel an Wasser, nicht die in der zähen Flüssigkeit verhinderte Bewegung der Moleküle die Ursache der Unwirksamkeit des Emulsins in der Glycerinlösung ist. Da nun aber bei 70° in der Glycerinlösung intensive Einwirkung von Emulsin eintritt, ist ersichtlich, dass das zur Zerlegung des Amygdalins erforderliche Wasser durch eine Zersetzung geliefert wird, entweder des Emulsins oder des Glycerins, wenn die Mischung wirklich wasserfrei ist. Zur Aufklärung dieses Verhaltens wurde eine wässrige Emulsinlösung in zwei gewogene Theile getheilt, die eine Portion bei gewöhnlicher Temperatur mit der Luftpumpe getrocknet, die andere auf dem siedenden Wasserbade zur Trockene gebracht, die erste Portion gab 3.310 pr. Ct., die letztere 3.281 pr. Ct. festen Rückstand, die erstere Portion wurde dann wieder in Wasser gelöst und jetzt auf dem siedenden Wasserbade eingedunstet und getrocknet. Sie gab jetzt 3.282 pr. Ct. des ursprünglichen Flüssigkeitsgewichts in festen Stoffen. Es verliert also das aus wässriger Lösung bei 100° getrocknete Emulsin mehr Wasser als das bei gewöhnlicher Temperatur getrocknete und diess scheint mit seiner Wirksamkeit als Ferment im Zusammenhang zu stehen. Wird nun beim Erhitzen einer Emulsin- und Amygdalinlösung in Glycerin Wasser vom Emulsin abgetrennt, so kann sofort eine Spaltung von Amygdalin eintreten, aber es muss dieser Process stehen bleiben, sobald das Wasser verbraucht ist, welches das vorhandene Emulsin bei seiner Zerlegung liefern kann. Da jedoch hier noch manche

andere Processe möglicherweise ins Spiel kommen können, habe ich unterlassen, diese Frage weiter zu verfolgen.

Das Emulsin ist speciell das Ferment der Glucoside aromatischer Substanzen, seine Einwirkung auf Salicin, auf Arbutin, auf Aesculin ist bekannt, alle Versuche, die ich angestellt habe durch Emulsin Kohlehydrate z. B. Stärkmehl, Dextrin, Glycogen, Rohrzucker in der Weise zu verändern, wie diess durch andere Fermente leicht gelingt, gaben ein negatives Resultat, es ist hienach anzunehmen, dass seine Einwirkung gerade den aromatischen Atomcomplex nicht die Kohlehydratreste betrifft.

Die Zerlegung des Amygdalins durch Emulsin scheint endlich ohne bemerkbare Entwicklung von Wärme zu erfolgen. Ein Versuch, diese Frage zu entscheiden, wurde in folgender Weise angestellt. Zur Aufnahme der Amygdalinlösung diente ein dickwandiges cylindrisches Glas von ca. 350 Cc.-Inhalt, auf dessen obern Rand eine Glasplatte als Deckel aufgeschliffen war. Diese Glasplatte hatte in der Mitte eine runde Bohrung zur Durchlassung eines in $^1/_{10}{}^0$ getheilten Thermometers. An dieses Thermometer wurde ein abgeschliffenes Bechergläschen von ca. 30 Cc. gehalt mittelst Platindrath befestigt. Dieses Mischglas kam zunächst in ein Gefäss von blankem Weissblech, ebenfalls mit Deckel versehen zu stehen, so dass der Abstand nach allen Seiten 2—3 Centimeter betrug, als äussere Hülle diente eine proportional grössere Blechbüchse, die aussen mit 3 runden Oesen versehen war, um den ganzen Apparat aufzuhängen. Der Deckel der kleinern innern Blechbüchse hatte in der Mitte ein Loch zur Durchlassung des in das Mischungsgefäss reichenden Thermometers, ein gleiches Loch war in dem Deckel der äussern Büchse und ausserdem eines zur Anbringung eines Thermometers in dem äussersten Zwischenraum. Die Zwischenräume zwischen den einzelnen Gefässen wurden mit Gänseflaum ausgefüllt.

Zunächst wurde dieser Apparat auf seine Empfindlichkeit geprüft, indem in das innere Glas warmes Wasser gebracht wurde, und die Abnahme der Temperatur am mittlern in das warme Wasser reichenden und gleichzeitig die Zunahme der Temperatur an dem im äussern Zwischenraum befindlichen Thermometer beobachtet wurde. Die Abnahme der Temperatur bei dem warmen Wasser war eine höchst langsame, brauchte 12 Stunden zu einer Abnahme um 30° C., während welcher Zeit das äussere Thermometer blos um 6° C. stieg. In zweiter Linie wurde erprobt, ob eine concentrirte Amygdalinlösung beim Vermischen mit Wasser Wärme entwickelt und eine Lösung von 10 Gramm Amygdalin in 90 Gramm Wasser mit 10 Gr. Wasser in dem Calorimeter gemischt, nachdem durch diesen Versuch constatirt war, dass eine Erwärmung nicht stattfindet, wurde diese Amygdalinlösung mit einer Lösung von 1 Gramm Emulsin in 10 Cc. Wasser gemischt. Die Mischung wurde immer so vollzogen, dass die Amygdalinlösung in das grössere Glas gebracht wurde, die Emulsinlösung in das an dem Thermometer hängende Gläschen. Nachdem der Apparat zusammengesetzt war und einige Zeit zur Ausgleichung der Temperatur ruhig hängen gelassen, wurde erst die Mischung vollzogen, indem das Thermometer das in einem durchbohrten Kork lief, abwärts gedrückt wurde, und dadurch das kleine Becherglas unter die Amygdalinlösung tauchte. Es war bei diesem Versuch nicht die geringste Differenz in der Temperatur zu beobachten. Allerdings ist für diese Untersuchung sehr ungünstig, dass, wie schon Liebig hervorhebt, die Zerlegung des Amygdalins in sehr concentrirter Lösung durch Emulsin sehr langsam von Statten geht.

II. Legumin.

In den Mandeln ebenso wie in zahlreichen viel benützten Samen besonders in den Hülsenfrüchten sind Eiweissstoffe enthalten, deren Eigenthümlichkeiten noch kaum ernstlich Gegenstand der Untersuchung gewesen sind. Die gewöhnlich gebrauchte Bezeichnung für diese Körper wie Legumin, Pflanzencasein u. s. w. sind desshalb ohne Bedeutung, weil die nach den gegebenen Vorschriften dargestellten Substanzen, denen man diese Namen gegeben hat, Zersetzungsproducte der Körper sind, die sich im Samen finden. So wie die Fermente sind eben auch die meisten der in Thieren und Pflanzen enthaltenen Eiweissstoffe durch Kochen der Lösung, Zusatz von Alkohol oder Säuren, selbst Stehenlassen der abgeschiedenen Substanzen unter Wasser, grösstentheils sehr leicht veränderlich, sie sind ausserdem meist nicht von einander getrennt und nicht von Lecithin befreit zur Untersuchung gekommen. Wie in den Organen der Thiere findet sich auch in den Pflanzensamen eine Classe von Eiweissstoffen, welche an sich unlöslich in Wasser doch in die Wasserauszüge derselben theilweise aufgenommen werden, da das Wasser die Alkalisalze zum grössten Theil auflöst, durch Zusatz von mehr Wasser werden sie dann wieder mehr und mehr ausgefällt, gänzlich gelöst werden sie dagegen durch Extraction der gepulverten Samen mit mässig verdünnten Salzlösungen, aus diesen Lösungen, wenn sie neutral sind, werden sie dann durch Ueberschuss von Wasser zunächst wieder unverändert abge-

schieden. In verdünnten Alkalilaugen, sowie in Wasser, welches nur $^1/_2$—1 pr. Ct H Cl enthält, werden sie leicht gelöst, aber schnell in andere Eiweissstoffe, nämlich in Alkalialbuminate oder Acidalbumin übergeführt. Nach den Reactionen der Salzwasserauszüge von Getreidemehl, Mandeln, Bohnen, Erbsen u. s. w. könnte man glauben, dass in ihnen allen ein und dieselbe Substanz enthalten sei, welche zur Classe der Globulinsubstanzen zu zählen wäre. Zur Entscheidung dieser Frage würde zunächst die analytische Untersuchung dieser Stoffe erforderlich sein und hierzu habe ich im Folgenden wenigstens einige Beiträge liefern können, durch Untersuchung der Zusammensetzung der aus Mandeln, sowie aus Erbsen dargestellten Globulinsubstanzen. Sowie die aus thierischen Organen dargestellten Globuline reissen auch die in den Pflanzensamen enthaltenen bei ihrer Fällung ein wenig Lecithin mit sich nieder, dessen Abtrennung mit Alkohol und Aether auszuführen ist, ehe man zur Analyse schreitet, da bei Unterlassung dieser Behandlung unberechenbare Differenzen sich in den Resultaten herausstellen könnten. Wird durch die Behandlung mit heissem Alkohol bis auf geringe Beimengung von phosphorsaurem Calcium der ganze Phosphorgehalt entfernt, so ist die Beimengung eines Nucleinkörpers nicht zu fürchten [1]). Durch die ausgefällte Eiweisssubstanz mit niedergerissenes Cholesterin wird leichter als das Lecithin durch Aether ausgezogen.

Zur Darstellung der bezeichneten Stoffe wurden zunächst süsse Mandeln mit Aether entfettet und mit $^1/_{10}$ gesättigter Chlornatriumlösung zu einer dünnflüssigen Masse angerührt, nach dreistündiger Maceration an einem kühlen Ort, gepresst und klar filtrirt. Das Filtrat wurde mit soviel destillirtem

1) Vergl. Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuch. Heft 4. 1871 p. 452 u. p. 500.

Wasser versetzt, als ein Zusatz davon noch einen Niederschlag bewirkte, die Fällbarkeit dieses Eiweisskörpers wird wesentlich befördert durch Einleiten von Kohlensäure, da der Salzwasserauszug der Mandeln alkalisch reagirt, der Niederschlag wird absitzengelassen, von der überstehenden Flüssigkeit befreit, mit destillirtem Wasser gewaschen, dann mit kochendem Alkohol und zuletzt mit Aether ausgezogen. Der so erhaltene Körper bildet ein rein weisses, feines Pulver, das sich nach längerem Stehen unter Wasser nicht mehr vollständig in Chlornatriumlösung löst, aus dieser Lösung durch Wasserüberschuss wieder gefällt wird und im Uebrigen die oben angegebenen Reactionen zeigt. Die von dem niedergefallenen Albuminkörper abgehobene Flüssigkeit enthält noch einen zweiten Albuminkörper, der sich durch Kochen nach Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure coaguliren lässt, und ohne Zweifel der Classe von Eiweisssubstanzen beizuzählen ist, die weder durch Wasser noch andere Reagentien ohne Veränderung ausgefällt werden und als deren bekanntesten Repräsentanten man das Albumin des Blutserums betrachten kann.

Die Analysen des aus Chlornatriumlösung durch Wasser gefällten, bei 100°—110° getrockneten Körpers ergab:

I. 0.2355 Gramm Substanz gaben 0.4735 CO_2
0.1528 H_2O

II. 0.2360 » » » 0.4750 CO_2
0.1565 H_2O

III. 0.3305 » » » 0.3935 Pt

IV. 0.2780 » » » 0.3300 Pt

V. 0.5315 » » » 0.0200 Ba SO_4

VI. 0.4190 » » » 0.0160 Ba SO_4

Hieraus berechnet sich:

	I.	II.	Mittel
C	54.84	54.90	54.87
H	7.21	7.37	7.29

	I.	II.	Mittel
N	16.85	16.79	16.82
S	0.52	0.52	0.52
O	—	—	20.50

Erbsenmehl wurde auf die gleiche Weise, wie von den Mandeln beschrieben mit Chlornatriumlösung behandelt und der gewonnene Eiweisskörper bei 100—110° getrocknet, analysirt.

I. 0.2350 Grm. Substanz gaben 0.4760 Grm. CO_2
0.1515 » H_2O
II. 0.2480 » » » 0.5055 » CO_2
0.1580 » H_2O
III. 0.1865 » » » 0.3755 » CO_2
0.1205 » H_2O
IV. 0.2225 » » » 0.4470 » CO_2
0.1350 » H_2O
V. 0.2270 » » » 0.4540 » CO_2
0.1460 » H_2O
VI. 0.2835 » » » 0.3280 » Pt
VII. 0.3080 » » » 0.3570 » Pt
VIII. 0.6290 » » » 0.0220 » $BaSO_4$
IX. 0.3085 » » » 0.0120 » $BaSO_4$

Hieraus ergibt sich:

	I.	II.	III.	IV.	V.	Mittel.
C	55.24	55.59	54.91	54.79	54.55	55.02
H	7.16	7.08	7.18	6.74	7.15	7.14 [1]
N	16.37	16.40	—	—	—	16.39
S	0.48	0.53	—	—	—	0.50
O	—	—	—	—	—	20.95

Die Differenzen in der Zusammensetzung dieser Substanzen aus Mandeln und Erbsen sind nur hinsichtlich des

1) Bei Berechnung der Mittelzahlen ist der sehr abweichende Werth IV ausser Acht gelassen.

Stickstoffgehalts von einigem Belang, betragen aber auch hier noch nicht 0.4 pr. Ct., ich glaube sonach annehmen zu dürfen, dass dieser höhere Gehalt in den Mandeln auf einer Verunreinigung beruht, die nach der angewendeten Methode noch nicht entfernt werden kann, dass aber diese Globulinsubstanz in Mandeln und Erbsen identisch ist und hiefür spricht ausser den Analysen die völlige Uebereinstimmung in allen Reactionen. Ob diese Substanz, für welche man den Namen Legumin beibehalten kann, mit einer Globulinsubstanz thierischen Ursprungs identisch ist, wird erst ermittelt werden können, wenn diese letztern analysirt sein werden. Die Werthe, welche in den Analysen des Legumin von Dumas u. Cahours, Varrentrapp u. Will, Scherer, Rüling, Loewenberg, Noad, Norton und andern (vergl. Gmelins Handbuch Bd. VII. pag. 2364) erhalten sind, weichen nicht allein untereinander sehr bedeutend ab, sondern sind auch insgesammt so verschieden von den Resultaten meiner Analysen, dass hieraus deutlich ersichtlich wird, dass die genannten Chemiker allerlei Kunstproducte untersucht haben, die sie aus den in Pflanzensamen enthaltenen Eiweissstoffen je nach ihren verschiedenen Darstellungsmethoden gewonnen haben. Ich kann nicht bestreiten, dass auch das von mir gewonnene Legumin Zersetzungsproduct recht wohl sein kann, aber wenn es ein solches ist, kann es nur durch eine ähnliche Umwandlung entstehen, wie das Myosin bei der Todtenstarre des Muskels und gerade mit dieser Globulinsubstanz zeigt das Legumin bemerkenswerthe Uebereinstimmung in seinem ganzen Verhalten. Auch die Angaben von Ritthausen über das Legumin und Conglutin beziehen sich auf Zersetzungsproducte, die durch eingreifendere Processe gebildet sind und den natürlichen Proteinstoffen insofern auch ferner stehen, als der von mir untersuchte Körper. Nach Untersuchungen von Herrn Professor Hoppe-Seyler sind Globulinsubstanzen in den

Pflanzen sehr verbreitet und scheinen hier ebenso bei der Erstarrung der Protoplasmen zu entstehen wie in den Thieren.

Ein interessantes Verhalten zeigt das Legumin in Chlornatriumlösung gegen Gypslösung, es wird durch dieselbe gefällt und durch den Ueberschuss der Gypslösung nicht gelöst, wohl aber durch concentrirtere Chlornatriumlösung oder durch kohlensaure Alkalien. Der Niederschlag mit Wasser gut gewaschen und getrocknet, dargestellt aus Legumin der Erbsen gab I. von 0.8730 Gramm bei 110° getrockneter Substanz 0.1010 Gramm Ca CO_3, ferner II. 0.8620 Gramm Kalkverbindung von Legumin dargestellt aus Bohnen gab 0.1020 Gramm Ca CO_3 beim Veraschen. Hiernach enthält dieser Niederschlag I. 4.63 pro Cent. und II. 4.73 pr. Ct., im Mittel 4.68 pr. Ct. Calcium. Hiernach würde das Molekulargewicht dieser Kalkverbindung, wenn sie ein Atom Calcium im Molekül enthielte, 855 und also das des kalkfreien Eiweissstoffes 817 sein, der geringe Gehalt an Schwefel im Legumin erfordert aber mindestens ein 8mal so hohes Molekulargewicht, und diess letztere würde also in Höhen zu suchen sein; welche vorläufig noch zweckmässig erscheinen lassen, eingehendere Berechnungen nicht zu wagen.

Herrn Prof. Dr. Hoppe-Seyler, in dessen Laboratorium diese Arbeiten ausgeführt wurden, drücke ich für seine freundliche Unterstützung meinen wärmsten Dank aus.